

KARAKTERISTIK MIKROKAPSUL PROBIOTIK *Lactobacillus plantarum* YANG DIENKAPSULASI DENGAN SUSU SKIM DAN GUM ARAB

[*Microcapsul Characteristics of Probiotic Lactobacillus plantarum Encapsulated by Skim Milk and Arabic Gum*]

H. Rizqiati¹⁾, B.S.L. Jenie²⁾, N. Nurhidayat³⁾ dan C.C. Nurwitri²⁾

¹⁾ Fakultas Peternakan UNDIP, Kampus Baru UNDIP Tembalang, Semarang

²⁾ Sekolah Pasca Sarjana IPB, Kampus Darmaga, Bogor

³⁾ Bidang Mikrobiologi Puslit Biologi – LIPI, Serpong

Email: heni.tehate@gmail.com

Received April 15, 2009; Accepted May 25, 2009

ABSTRACT

Probiotic *Lactobacillus plantarum* sa28k and *Lactobacillus plantarum* mar8 were encapsulated by skim milk, arabic gum, and mixture of skim milk - arabic gum. The probiotic culture was made by forming in biomass and suspension, encapsulating then was dried by spray drying method. Moisture content of probiotic microcapsule were in the range 7.4%-9.3%. Total yeast content in microcapsule were about 1.2-1.9 log cfu/g. Screening result by Scanning Electron Microscope showed that in general has rounded form with unsmooth surfaces and some time had deep wrinkled at the surfaces. Microcapsule had various size, they were about 5-12 μ m.

Keywords: *encapsulation, skim milk, arabic gum*

PENDAHULUAN

Probiotik adalah suplemen berupa mikroba hidup yang memberi keuntungan kepada manusia, khususnya dalam keseimbangan mikroflora usus (Fuller, 1999). Salminen *et al.* (1998) menjelaskan pentingnya viabilitas probiotik, yaitu preparasi mikroba hidup yang bermanfaat bagi kesehatan. Jumlah mikroba hidup harus cukup untuk memberikan efek positif bagi kesehatan dan mampu berkolonisasi sehingga dapat mencapai jumlah yang diperlukan selama waktu tertentu. Untuk menjaga viabilitas bakteri maka perlu usaha melindungi bakteri, salah satunya dengan metode enkapsulasi.

Enkapsulasi adalah suatu proses pembungkusan (coating) suatu bahan inti, dalam hal ini adalah bakteri probiotik sebagai bahan inti dengan menggunakan bahan enkapsulasi tertentu, yang bermanfaat untuk mempertahankan viabilitasnya dan melindungi probiotik dari kerusakan akibat kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan (Wu *et al.*, 2000). Pacifico *et al.* (2001) menyatakan bahwa untuk komponen yang bersifat peka seperti mikroorganisme, dapat dienkapsulasi untuk meningkatkan viabilitas dan umur simpannya. Bahan yang umum digunakan untuk enkapsulasi adalah berbagai jenis polisakarida dan protein seperti pati, alginat, gum arab, gelatin, karagenan, albumin dan kasein. Penggunaan bahan

untuk enkapsulasi perlu dipertimbangkan, karena masing-masing bahan mempunyai karakter yang berbeda dan belum tentu cocok dengan bahan inti yang akan dienkapsulasi (Desmond *et al.*, 2002).

Penelitian tentang enkapsulasi probiotik sebelumnya sudah dilakukan oleh beberapa peneliti dengan berbagai variasi bahan enkapsulasi dan kultur yang dienkapsulasi, diantaranya : enkapsulasi Bifidobacteria dan *Lactobacillus* dengan alginat - pati (Sultana *et al.* 2000), *Lactobacillus casei* dengan alginat - tepung polard dan terigu (Widodo *et al.* 2003), Bifidobacteria dengan whey protein (Picot dan Lacroix 2004), *Lactobacillus spp.* dengan kalsium alginat (Chandramouli *et al.*, 2004). Dari beberapa penelitian di atas dihasilkan bahwa penggunaan bahan enkapsulasi dari jenis protein, memberi hasil ketahanan setelah proses enkapsulasi yang lebih baik dan penggunaan bahan enkapsulasi dari jenis polisakarida menyebabkan tekstur yang kasar pada mikrokapsul yang dihasilkan maupun setelah diaplikasikan pada produk. Untuk itu dalam penelitian ini dipelajari bahan enkapsulasi skim yang berbahan dasar protein dan polisakarida gum arab serta kombinasi dari keduanya untuk memperoleh hasil yang terbaik. Gum arab merupakan hidrokoloid yang dihasilkan dengan eksudasi alami dari pohon akasia, merupakan hidrokoloid yang sangat mudah larut dalam air panas maupun air dingin, membentuk larutan dengan

viskositas rendah, akan tetapi tidak larut pada alkohol dan pelarut organik lainnya. Gum arab dapat mempertahankan flavor dari makanan yang dikeringkan dengan metode spray drying karena gum ini dapat membentuk lapisan yang dapat melindungi dari oksidasi, absorpsi dan evaporasi (Bertolini *et al.*, 2001). Karena sifat viskositasnya yang rendah dan tidak adanya rasa dan warna, maka gum arab dapat ditambahkan dalam jumlah tertentu tanpa mengganggu sifat organoleptik produk pangan dimana gum arab ditambahkan (Mosilhey, 2003). Bubuk kering hasil spray drying yang mengandung sejumlah besar mikroorganisme hidup merupakan bentuk yang sesuai untuk tujuan penyimpanan dan aplikasi dalam pengembangan pangan fungsional. Salah satu faktor yang harus diperhatikan dari karakteristik bubuk kering hasil spray drying adalah kadar air, karena jika kadar air suatu produk pangan terlalu tinggi akan menyebabkan produk mudah ditumbuhi kapang dan khamir (Krasaekoopt *et al.*, 2003). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengkaji karakteristik mikrokapsul probiotik *Lactobacillus plantarum* yang dienkapsulasi menggunakan bahan enkapsulasi susu skim, gum arab serta kombinasi susu skim dan gum arab yang meliputi kadar air mikrokapsul, kontaminasi kapang khamir dan gambar mikroskopis dari mikrokapsul.

MATERI DAN METODE

Bahan-bahan yang digunakan untuk enkapsulasi adalah susu skim (*Oxoid*), dan gum arab (*Oxoid*). Medium yang digunakan untuk pembuatan stok kultur adalah medium *Glucose Yeast Peptone* (GYP) yang berisi antara lain glukosa 10 g, ekstrak khamir 10 g, bacto pepton 5 g, ekstrak daging sapi 2 g, Na asetat H_2O 1,4 g, larutan garam 5 ml, tween 80 10 ml, dan H_2O 1000 ml.

Bahan lain yang digunakan adalah *Phosphat Buffer Saline* (PBS) dan alkohol. Alat-alat yang digunakan adalah BUCHI mini spray dryer, *Scanning Electron Microscope* (SEM), sentrifus suhu rendah (refrigerated), refrigerator, otoklaf, waterbath, laminar air flow, inkubator, neraca digital, pH-meter, magnetik stirer, vortex, mikropipet, alat gelas, ose dan bunsen. Bakteri asam laktat (BAL) yang digunakan yaitu *Lactobacillus plantarum* mar8, yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Puslit Biologi LIPI Bogor dan *Lactobacillus plantarum* sa28k dari Laboratorium Mikrobiologi Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian IPB. Kedua isolat tersebut berpotensi sebagai probiotik berdasarkan sifat-sifat antimikroba serta ketahanan terhadap asam dan garam empedu.

Pelaksanaan Penelitian

Secara garis besar penelitian terdiri dari 4 tahap, meliputi : 1) persiapan dan pengawetan probiotik, 2) produksi biomasa dan suspensi, 3) enkapsulasi probiotik dan 4) analisis.

Persiapan dan Pengawetan Probiotik

Pemurnian dan peremajaan dilakukan untuk memperoleh kultur murni dari probiotik, menggunakan metode Harmayani *et al.* (2001) dengan modifikasi pada media yang digunakan. Semua probiotik dimurnikan lebih dahulu dengan metode goresan kuadran yang diulangi beberapa kali sampai diperoleh koloni terpisah dengan menggunakan media GYP. Probiotik yang telah dimurnikan kemudian disegarkan dan diperbanyak. Kultur stok dalam agar GYP disimpan pada suhu rendah (suhu 4-5 °C).

Produksi Biomasa dan Suspensi Probiotik

Produksi biomasa probiotik diperoleh dengan cara, probiotik yang telah ditumbuhkan pada agar miring GYP, ditumbuhkan kembali pada media GYP cair selama 24 jam pada suhu 37 °C, yang selanjutnya digunakan sebagai kultur antara. Sebanyak 10 ml kultur antara ditumbuhkan pada GYP cair 1000 ml (1:100) yang digunakan untuk produksi biomasa. Selanjutnya biomasa dipanen dengan cara sentrifugasi (5000xg) selama 10 menit pada 4 °C, dan dicuci dua kali dengan buffer fosfat (Harmayani *et al.*, 2001). Suspensi probiotik diperoleh dengan cara, probiotik ditumbuhkan kembali pada media 10% susu skim cair steril selama 24 jam pada suhu 37 °C, yang selanjutnya digunakan sebagai kultur antara. Sebanyak 2,5 ml kultur antara dimasukkan ke dalam 250 ml larutan susu skim 10% steril (b/v), kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C.

Enkapsulasi Probiotik dan Spray Drying

Kultur probiotik yang digunakan sebelum dienkapsulasi adalah dalam bentuk biomasa dan suspensi. Biomasa yang diperoleh diresuspensikan ke dalam akuades steril dan dienkapsulasi dengan susu skim, gum arab serta campuran susu skim dan gum arab. Perbandingan biomasa dan bahan enkapsulasi yang digunakan adalah sebesar 3:7 (b/b) (Lian *et al.*, 2002). Probiotik dalam bentuk suspensi yang telah ditumbuhkan dalam susu skim 10% (b/v) langsung dikeringkan dengan spray dryer, kemudian selanjutnya suspensi dienkapsulasi dengan gum arab dengan perbandingan 1:1 (b/b). Kombinasi perlakuan enkapsulasi adalah sebagai berikut : biomasa - susu skim, biomasa - gum arab, biomasa - susu skim - gum arab, suspensi - susu skim dan suspensi - susu skim -

gum arab. Campuran dihomogenisasi, kemudian dikeringkan dengan BUCHI mini spray dryer pada suhu inlet 100 °C dan suhu outlet 50 °C.

Penyimpanan Mikro kapsul Probiotik

Probiotik yang sudah dienkapsulasi (mikro kapsul) dimasukkan ke dalam botol steril dan disimpan pada suhu rendah (4 °C) dan suhu kamar selama satu bulan untuk pengujian viabilitas probiotik.

Analisis Kadar Air

Pada pengukuran kadar air menurut metode Apriyantono *et al.* (1989), terlebih dahulu cawan dikeringkan dengan oven selama 15 menit dan didinginkan dalam desikator kemudian ditimbang. Setelah itu ditimbang dengan cepat sampel sebanyak 0,5 g. Selanjutnya cawan sampel dimasukkan ke dalam oven bersuhu 105 °C selama 6 jam. Cawan sampel didinginkan dalam desikator dan ditimbang beratnya. Cawan dan sampel dimasukkan kembali ke dalam oven sampai diperoleh berat yang tetap (3 desimal). Kadar air dihitung berdasarkan basis kering.

Analisis Total Kapang Khamir

Analisis kontaminasi kapang khamir dilakukan pada media YMA agar. Mikro kapsul sebanyak 1 g secara aseptis dimasukkan ke dalam 9 ml akuades steril dan divortex, selanjutnya diencerkan sampai pengenceran 10^{-2} . Jumlah kontaminan dihitung dengan metode hitungan cawan dengan beberapa seri pengenceran setelah diinkubasi pada 37 °C selama 48 jam. Kemudian dihitung total kapang dan khamir berdasarkan standar *plate count* (Fardiaz, 1992).

Ukuran dan Bentuk Mikro kapsul

Diameter dan bentuk dari mikro kapsul diperiksa dengan *Scanning Electron Microscope*, dengan cara mikro kapsul ditempatkan merata pada aluminium stubs yang berupa lempengan berdiameter 6 mm kemudian divakum dengan gas argon sampai stabil dan dilapisi emas dengan *sputter coater* selama 20 detik.

Selanjutnya aluminium stubs yang berisi sampel dimasukkan pada alat *electron microscope* dan diamati diameter mikro kapsul serta bentuk mikroskopis dari mikro kapsul (Lian *et al.*, 2002).

HASIL DAN PEMBAHASAN

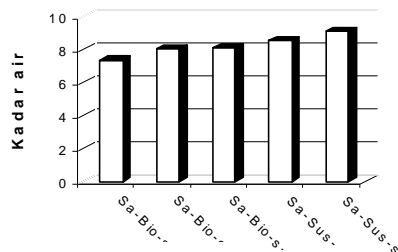
Kadar Air Mikro kapsul Probiotik

Hasil pengukuran kadar air dapat dilihat pada Gambar 1. Kadar air mikro kapsul probiotik yang diperoleh berkisar antara 7,4–9,3%. Kadar air pada mikro kapsul, dengan bentuk kultur suspensi yang menggunakan bahan enkapsulasi campuran susu skim-gum arab 9,2% dan bahan enkapsulasi susu skim 8,9%. Kadar air pada mikro kapsul, dengan bentuk kultur biomasa yang menggunakan bahan enkapsulasi campuran susu skim-gum arab menghasilkan mikro kapsul probiotik dengan kadar air 8,4%, gum arab 8,3% dan susu skim 7,6%. Pada bentuk kultur suspensi ternyata kadar airnya lebih tinggi dibanding bentuk kultur biomasa. Hal ini diduga dalam kultur suspensi sebelum di *spray drying* kandungan airnya masih cukup tinggi dibandingkan dengan kultur dalam bentuk biomasa yang sudah disentrifugasi terlebih dahulu. Seveline (2005) melaporkan enkapsulasi probiotik dengan bahan dekstrin dan triasil gliserol menghasilkan kadar air sebesar 7-12%. Lian *et al.* (2002) melaporkan bahwa kadar air mikro kapsul *Bifidobacteria* dari bahan enkapsulasi gelatin, gum arab dan pati yang dibuat dengan metode *spray drying* berkisar antara 6-10%. Penggunaan *spray drying* akan menghasilkan pengurangan kadar air bahan (Johnson dan Etzel, 1997).

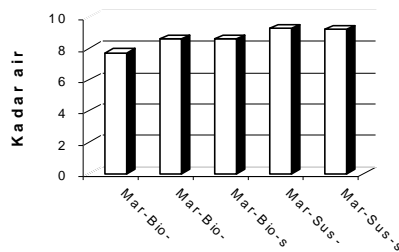
Analisis Total Kapang Khamir

Kontaminasi kapang khamir pada mikro kapsul probiotik disajikan pada Gambar 2. Total kapang khamir untuk semua perlakuan sekitar 1,2-1,9 log cfu/g mikro kapsul. Seveline (2005) melaporkan kontaminasi kapang khamir pada produk mikro kapsul probiotik dengan bahan enkapsulasi dekstrin dan triasil gliserol sekitar 0,5-1,1 log cfu/g berat kering produk.

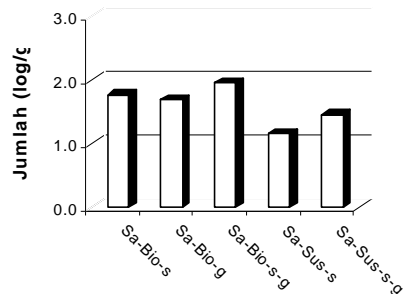
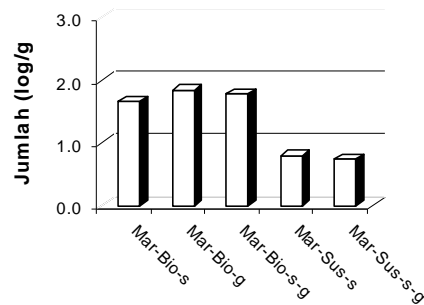
a) *Lactobacillus plantarum* sa28k



b) *Lactobacillus. plantarum* mar8



Gambar 1. Grafik kadar air mikro kapsul probiotik (Sa: *Lactobacillus plantarum* sa28k, Mar: *Lactobacillus plantarum* mar8, Bio: biomasa, Sus: suspensi, s: skim, g: gum arab)

a) *Lactobacillus plantarum* sa28kb) *Lactobacillus plantarum* mar8

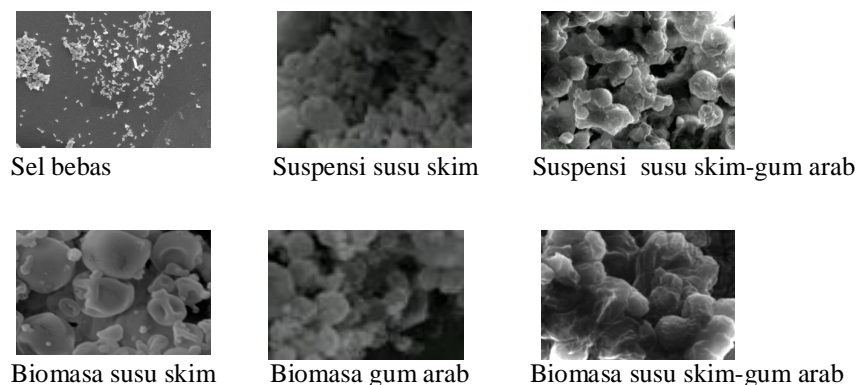
Gambar 2. Grafik total kapang khamir mikroksul probiotik *Lactobacillus plantarum* sa28k (a) dan *Lactobacillus plantarum* mar8 (b) pada beberapa kombinasi bahan enkapsulasi (Sa: *Lactobacillus plantarum* sa28k, Mar: *Lactobacillus plantarum* mar8, Bio: biomasa, Sus: suspensi, s: skim, g: gum arab)

Hal serupa juga dikemukakan oleh Eddy (1999), kontaminasi kapang dan khamir pada produk yogurt kering semprot sekitar 2-3 log cfu/g produk. Nuraida *et al.* (1995), juga menyatakan setelah proses pengeringan pada pembuatan dan pengawetan kultur kering yogurt ditemukan kapang dan khamir pada hampir semua contoh dengan jumlah tertinggi 55 cfu/g. Pada spesifikasi persyaratan mutu susu bubuk tanpa lemak (susu skim), SNI no 01-2970-1999, tidak terdapat persyaratan kontaminasi khusus kapang khamir, yang ada hanya cemaran angka total mikroba. Standar maksimal jumlah mikroba total yang ditetapkan adalah 5×10^5 cfu/g (BSN, 1999).

Kapang dan khamir pada mikroksul jumlahnya masih dibawah kisaran jumlah cemaran mikroba total, sehingga produk yang dihasilkan masih aman untuk dikonsumsi. Kontaminasi kapang khamir ini terjadi diduga berasal dari peralatan atau udara yang kurang aseptis. Hal ini sesuai dengan pendapat Fardiaz (1992), yang menyatakan bahwa spora kapang khamir dapat berpindah melalui udara.

Ukuran dan Bentuk Mikroksul

Gambar 3. menunjukkan mikrograf scanning electron dari mikroksul probiotik yang diperoleh setelah pengeringan dengan berbagai kombinasi bahan enkapsulasi. Mikroksul tersebut secara umum berbentuk bulat dengan permukaan yang retak-retak, tidak rata atau terdapat lipatan yang dalam pada permukaannya. Ukuran dari mikroksul bervariasi, yaitu sekitar 5-12 μm . Seperti pengamatan yang dilakukan Charpentier *et al.* (1998), mikroksul gum arab, gelatin dan pati terlarut berbentuk seperti bola yang telah terdehidrasi. Dilain pihak, permukaan mikroksul susu skim terlihat berbutir-butir dan retak. Menurut Lian *et al.* (2002), retak tersebut mungkin memfasilitasi lepasnya panas dari dalam partikel setelah pengeringan, menyebabkan kerusakan akibat panas (heat injury) yang lebih sedikit terhadap mikroorganisme yang terperangkap di dalamnya. Hal ini mungkin yang menjelaskan ketahanan probiotik lebih tinggi setelah *spray drying* dengan susu skim dibanding dengan komposisi bahan enkapsulasi lainnya.



Gambar 3. Mikroksul yang dilihat dengan *scanning electron microscope* (perbesaran 3500x - lebar : 37,7 μm)

KESIMPULAN

Kesimpulan

Kadar air mikrokapsul probiotik yang diperoleh berkisar antara 7,4%–9,3%. Kontaminasi kapang khamir pada mikrokapsul probiotik yaitu sekitar 1,2–1,9 log cfu/g mikrokapsul. Ukuran dari mikrokapsul bervariasi, yaitu sekitar 5–12 µm.

Saran

Untuk mengaplikasikan pada beberapa produk makanan atau minuman sebagai *carrier food* perlu dilakukan penelitian lebih lanjut. Mikrokapsul yang berasal dari bahan gum arab berwarna agak kecoklatan sehingga lebih baik dipakai pada produk yang tidak akan berpengaruh warnanya jika ditambah dengan mikrokapsul tersebut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih penulis sampaikan kepada Kepala Laboratorium Mikrobiologi Puslit Biologi LIPI Bogor yang telah memfasilitasi penelitian ini sehingga bisa berjalan lancar.

DAFTAR PUSTAKA

- Apriyantono A, D. Fardiaz, N.L. Puspitasari, Sedarnawati dan S. Budiyo. 1989. Petunjuk Laboratorium Analisa Pangan. Bogor: Pusat Antar Universitas IPB.
- Bertolini A.C., A.C. Siani dan C.R.F. Grosso. 2001. Stability of Monoterpenes encapsulated in gum arabic by spray drying. *J. Agr. Food. Chem.* 49:780–785.
- [BSN] Badan Standarisasi Nasional. 1999. Susu Bubuk. SNI 01-2970-1999. Jakarta.
- Chandramouli, V., K. Kailasapathy, P. Peiris and M.Jones. 2004. An improved method of microencapsulation and its evaluation to protect *Lactobacillus* spp. in simulated gastric condition. *J of Microbiol Methods* 56:27–35.
- Charpentier, C.A., P. Gadille, B. Digat and J.B. Benoit. 1998. Microencapsulation of *Rhizobacteria* by spray drying : formulation and survival studies. *J Microencapsulation* 15:639–659.
- Desmond, C. C. Stanton, G.F.K. Collins and R.P. Ross. 2002. Improved survival of *Lactobacillus paracasei* NFBC 338 in spray dried powders containing gum acacia. *J of Appl Microbiol* 93:1003–1012.
- Eddy, F.F. 1999. Pembuatan yoghurt instant dengan menggunakan pengering semprot [skripsi]. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan I. PT Gramedia, Jakarta.
- Fuller R. 1999. Probiotics from animals. In: Probiotics: A Critical Review. Editor : G.W. Tannock. Horizon Scientific Press.
- Harmayani, E, Ngatirah, E.S. Rahayu dan T. Utami. 2001. Ketahanan dan viabilitas probiotik bakteri asam laktat selama proses pembuatan kultur kering dengan metode freeze dan spray drying. *J Tek dan Industri Pangan* 12:126–132.
- Johnson, J.A.C. and M.R. Etzel. 1995. Properties of *Lactobacillus helveticus* CNRZ-32 attenuated by spray drying, freeze drying or freezing. *J Food Sci* 78:761–768.
- Krasaekoopt, W, B., H. Bhandari and H. Deeth. 2003. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *Int. Dairy J.* 13:3–13.
- Lian, W.C., H.C. Hsio and C.C. Chou. 2002. Survival of *Bifidobacterium longum* after spray drying. *Int. J. Food Microbiol.* 74:79–86.
- Mosilhey, S.H. 2003. Influence of different capsule materials on the physiological properties of microencapsulated *Lactobacillus acidophilus*. Institute of Food Technology, Faculty of Agriculture University of Bonn. 153 pages.
- Nuraida, L., D.R. Adawiyah and Subarna. 1995. Pembuatan dan Pengawetan Kultur Kering Yogurt. *Bul. Tek. dan Industri Pangan.* 6:85–93.
- Picot A, C. Lacroix. 2004. Encapsulation of *Bifidobacteria* in whey protein-based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal condition and in yoghurt. *Int. Dairy J.* 14:505–515.
- Pasifico, C.J., W. Wu and M. Fraley. 2001. Sensitive substance encapsulation. US Patent 6 251 478.
- Salminen, S and A.V. Wright. 1998. *Lactic Acid Bacteria*. Marcell Dekker Inc. New York
- Seveline. 2005. Pengembangan produk probiotik dari isolat klinis bakteri asam laktat dengan menggunakan teknik pengeringan semprot dan pengeringan beku [tesis]. Bogor: Sekolah Pasca Sarjana, Institut Pertanian Bogor.
- Sultana K, G. Godward, N. Reynolds, R. Arumugaswamy, P. Peiris and K. Kailasapathy. 2000. Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastro intestinal condition and in yoghurt. *Int. J. Food Microbiol.* 62:47–55.

- Widodo, Soeparno dan E. Wahyuni. 2003. Bioenkapsulasi probiotik (*Lactobacillus casei*) dengan pollard dan tepung terigu serta pengaruhnya terhadap viabilitas dan laju pengasaman. J.Tek. dan Industri Pangan 14:98-106.
- Wu W, W.S. Roe, V.G. Gimino, V. Seriburi, D.E. Martin and S.E. Knapp. 2000. Low melt encapsulation with high laurate canola oil. US. Patent 6 153 326.